Aus dem Diabetes Forschungsinsitut
an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. F. A. Gries

HUMORALE INSELZELL-ANTIKÖRPER BEI INSULIN-ABHÄNGIGEN DIABETIKERN

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Manfred Stroheker

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543910_0052

Aus dem Diabetes Forschungsinsitut
an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. F. A. Gries

HUMORALE INSELZELL-ANTIKÖRPER BEI INSULIN-ABHÄNGIGEN DIABETIKERN

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Manfred Stroheker

1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.:Prof.Dr.Krüskemper

Referent
gez.:Prof.Dr.Gries

Korreferent
gez.:Prof.Dr.Goslar

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
EINLEITUNG	1
METHODEN	3
1. Patienten	3
2. Antigenes Gewebe	4
3. Einfache indirekte Immunfluoreszenztechnik zum Nachweis von Inselzell-Antikörpern	4
4. Doppelte indirekte Immunfluoreszenztechnik zur Zelldifferenzierung	6
5. Kontrollen	8
ERGEBNISSE	10
1. Analyse der Seren auf Inselzell-Antikörper (ICA)	10
2. Analyse der Seren auf Inselzelltyp-spezifische Antikörper (Teilfluoreszenz)	11
DISKUSSION	13
1. ICA (Antikörper gegen die gesamte Insel)	13
2. Antikörper gegen einzelne Zelltypen des Inselapparates	21
3. Pathogenetische und klinische Relevanz von Immunmechanismen beim Diabetes mellitus	23
ZUSAMMENFASSUNG	27
TABELLEN 1 - 11	29-42
ABBILDUNGEN	43-44
LITERATUR	45

E I N L E I T U N G

Die Entdeckung von SCHMIDT (34) im Jahre 1902 dürfte erstmals die Vermutung hervorgerufen haben, der Ätiologie des Diabetes mellitus (Dm) könnte eine Entzündung zugrunde liegen. SCHMIDT fand im Pankreas von jungen Diabetikern Lymphozyten-Infiltrationen der Langerhansschen Inseln. Diese Erscheinung wurde dann 1940 durch VON MEYENBURG (27) als Insulitis bezeichnet. Man dachte ursprünglich, dieser Befund sei selten, bis GEPTS (11) bei einer größeren Zahl von Patienten, die akut an Diabetes mellitus verstarben, diese Infiltrationen fand.

MOORE und NEILSON (28) stellten 1963 bei Diabetikern, die weder an einer perniziösen Anämie noch an einer Schilddrüsenerkrankung litten, ein gegenüber einer Kontrollgruppe 3-4mal häufigeres Auftreten von humoralen Antikörpern gegen Magenschleimhaut und Schilddrüse fest. Sie zogen daraus den Schluß, daß möglicherweise ein Autoimmunprozeß für einige Formen des Diabetes mellitus, besonders den juvenilen Typ, verantwortlich sei.
In späteren Jahren wurde von weiteren Forschungsgruppen (13, 31, 36) eine gegenüber Kontrollgruppen signifikant häufigere Coexistenz des Diabetes mellitus mit autoimmunologischen Erkrankungen festgestellt. NERUP und BINDER (31) war es jedoch nicht möglich, bei Diabetikern humorale Antikörper gegen das endokrine Pankreas nachzuweisen. Dieser Nachweis gelang erstmals 1974 BOTTAZZO et al. (4) mittels der indirekten Immunfluoreszenzmethode bei einer Patientengruppe mit Polyendokrinopathien. Dadurch erhielt die Hypothese eines Autoimmunprozesses als ätiologischer Faktor für den Diabetes mellitus eine beachtliche Unterstützung.

MACLAREN et al. (24) beschrieben zirkulierende Antikörper der IgM- und IgG-Klasse gegen eine Gewebekultur von menschlichen Insulinom-Zellen bei Insulin-abhängigen Diabetikern.
Kürzlich wurden bei juvenilen Diabetikern nicht speziesspezifische Oberflächen-Antikörper gegen Insulin-produzierende Inselzellen gefunden (21).

Seit der Erstbeschreibung durch BOTTAZZO et al. (4) haben viele Forschergruppen Inselzell-Antikörper (Islet Cell Antibodies, ICA, Antikörper mit Immunfluoreszenz aller Zelltypen der Insel) bei Diabetikern gefunden (siehe Tabelle 9). Da jedoch die untersuchten Patientenkollektive in Manifestationsalter und Krankheitsdauer nicht oder nur zum Teil übereinstimmen, lassen sich Resultatsvergleiche nur mit Vorbehalt anstellen, was auch die starken Diskrepanzen in den Ergebnissen, auf die später noch eingegangen wird, deutlich machen.
Die meisten Autoren hatten nur relativ kleine Patientengruppen zur Verfügung. Vor allem existieren in der bisherigen Literatur kaum Untersuchungen einheitlicher Gruppen jugendlicher Diabetiker kurz nach Krankheitsbeginn.

1976 gelang es BOTTAZZO und LENDRUM (5), erstmals separate Auto-Antikörper gegen die A- und die D-Zellen der Insel aufzufinden.

In der vorliegenden Studie sollen die Seren Insulinabhängiger, vorwiegend juveniler Diabetiker, sowohl auf Antikörper gegen die gesamte Langerhanssche Insel, wie gegen einzelne Zelltypen des endokrinen Pankreas und die Persistenz dieser Antikörper untersucht werden.

METHODEN

1. Patienten

Seren von 398 Diabetikern vom juvenilen Typ wurden aus dem gesamten Gebiet der Bundesrepublik Deutschland erhalten. Es handelte sich dabei um 200 weibliche und 198 männliche Patienten. Daraus wurden zwei Patientenkollektive gebildet:

Kollektiv "1", früh untersuchte Diabetiker:

362 Patienten (175 weibl. und 187 männl. Patienten), bei denen die Blutentnahme innerhalb 8 Wochen nach Manifestation des Diabetes mellitus erfolgte. Das Alter dieser Patienten lag zwischen 1 und 43 Jahren, wobei jedoch nur 7 Patienten ein höheres Alter als 16 Jahre aufwiesen. Bei 35 dieser Patienten mit ICA (21 weibl. und 14 männl.) wurde ein Jahr später erneut Blut zur Untersuchung auf Antikörper gewonnen. Bei Patienten mit Antikörpern gegen einzelne Zelltypen wurden Verlaufsuntersuchungen durchgeführt, soweit Patientenseren zur Verfügung standen.

Kollektiv "2", spät untersuchte Diabetiker:

36 Patienten (23 weibl. und 13 männl. Patienten), deren Manifestation zwischen 3 Monaten und 28 Jahren zurücklag. Das Manifestationsalter dieser Patienten lag zwischen 3 und 46 Jahren. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme waren die Patienten 5 bis 59 Jahre alt.

Die Altersverteilung aller untersuchter Patienten ist in den Tabellen 6 und 7 dargestellt.

Venenblut wurde ohne Zusätze gewonnen und als Serum verschickt. Sämtliche Seren wurden bei -20°C aufbewahrt. Einige Seren waren vor der Untersuchung einmal aufgetaut, wodurch jedoch keine Inaktivierung der Antikörper erfolgte. Die Seren wurden im Höchstfall nach 2 Jahren, zumeist aber innerhalb des ersten Jahres nach der Blutentnahme getestet.

2. Antigenes Gewebe

Als Antigen für die Untersuchung der Seren auf Antikörper gegen das endokrine Pankreas wurde menschliches Pankreas eines Nierentransplantatspenders der Blutgruppe O verwendet. Die Berücksichtigung der Blutgruppe ist notwendig, da die Drüsenzellen des Pankreas normalerweise Blutgruppensubstanzen sezernieren, so daß Pankreas der Blutgruppe A oder B unerwünschte Fluoreszenz mit vielen Seren hervorruft (17). Der Gewebespender litt nicht an einem Diabetes mellitus.

Das Pankreas wurde sofort post mortem in kleinen Gewebestücken in flüssigem Stickstoff tiefgefroren und bei -70°C aufbewahrt (22). Bei -20°C wurden im Cryostat Schnitte von 5 µm Dicke hergestellt, auf mit Aceton-Methanol (1:1 Vol.) gereinigte Objektträger aufgebracht und 15 Minuten bei Zimmertemperatur getrocknet. Anschließend wurden die unfixierten Schnitte bei -70°C bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt.

3. Einfache indirekte Immunfluoreszenztechnik (5, 17, 37) zum Nachweis von Inselzell-Antikörpern

Prinzip der Methode: Ein Antigenpräparat wird mit einem unmarkierten Antiserum überschichtet, so daß sich Antikörpermoleküle an homologe Antigendeterminanten

binden. Diese Antikörpermoleküle können nun ihrerseits als Antigene für ein fluorochromiertes Antiglobulinserum dienen. Jene Stellen des Präparates, die das Konjugat gebunden haben, leuchten bei Erregung mit einer geeigneten Lichtquelle auf.

Nach diesem Prinzip wurden alle Seren unverdünnt auf Antikörper vom IgA-, IgG- und IgM-Typ untersucht.

Auf die 5 µm dicken unfixierten Pankreasgefrierschnitte wurden nach 15minütiger Trocknung unter kaltem Fön jeweils 0,05 ml Patientenserum mittels einer Pipette so aufgebracht, daß die Schnitte vollständig überflutet waren. Daraufhin erfolgte eine 30minütige Inkubation bei Zimmertemperatur in feuchter Kammer. Das Serum wurde dann von den Objektträgern mit Puffer ("phosphate buffered saline", PBS, pH 7,2) abgespült, welche anschließend in Küvetten mit PBS 15 Minuten gewaschen wurden, wobei jeweils nach 5 Minuten der Puffer erneuert wurde. Die Küvetten wurden mechanisch schwach hin und her bewegt, so daß der Puffer immer wieder über die Gewebeschnitte hinwegstreichen konnte, um überschüssiges, ungebundenes Immunglobulin auszuwaschen.
Nach dem Waschvorgang wurden die Objektträger getrocknet, ohne die Schnitte jedoch austrocknen zu lassen, und mit 0,05 ml Fluorescein-Isothiocyanat (FITC)-konjugiertem Anti-Human-IgA , -IgG respektive -IgM vom Schaf beschichtet und 20 Minuten wie oben angeführt inkubiert.

FITC-konjugiertes Anti-Human-IgA und -IgG wurden für die einfache Immunfluoreszenzmethode in einer Verdünnung von 1:10, -IgM 1:16, verwendet. Die Verdünnung wurde mit PBS (pH 7,2) durchgeführt.
Alle FITC-konjugierten Anti-Humanseren (vom Schaf) wurden von der Firma WELLCOME bezogen.

Daran schloß sich erneut ein Waschvorgang wie nach der Patientenserum-Inkubation an. Zuletzt wurden die Objektträger getrocknet und die noch feuchten Gewebeschnitte mit Glycerol-Glycin-Puffer (pH 8,6) eingedeckt. Dieser Puffer ist zusammengesetzt aus 70 % Glycerol und 30 % Glycin-Puffer (14 g Glycin, 0,7 g NaOH, 17 g NaCl und 1 g Na auf 1 Liter Aqua dest.).

Die Gewebeschnitte wurden mit dem Fluoreszenz-Auflichtilluminator Ploemopak 2.2 der Firma LEITZ untersucht. Als Filter kamen für die Blau-Anregung (für Fluoreszein) der Bandpassfilter 450-490, für die Grün-Anregung (für Rhodamin) der Bandpassfilter 546/14 zur Anwendung. Das Okular hatte eine 6,3fache Vergrößerung. Folgende Objektivvergrößerungen wurden verwendet:

2,5, 6,3, 10, 16, 25, 40.

Die Fluoreszenz der Gewebeschnitte wurde fotographisch mit dem KODAK-Ektachrome Color Film, ASA 160, 23 DIN dokumentiert.

4. Doppelte indirekte Immunfluoreszenztechnik (5, 37) zur Zelldifferenzierung

Prinzip der Methode: Das Prinzip ähnelt dem der einfachen indirekten Immunfluoreszenztechnik, jedoch werden bei der doppelten Immunfluoreszenztechnik zwei Antigene gleichzeitig mit spezifischen Konjugaten nachgewiesen, die mit verschiedenen Fluorochromen markiert sind.

Die Patientenseren, bei denen sich Teilfluoreszenzen der Langerhansschen Inseln fanden, wurden mit der doppelten indirekten Immunfluoreszenzmethode zur Differenzierung des Zelltyps nachuntersucht.

Nach 15minütiger Trocknung unter kaltem Fön wurden die Schnitte nach BOTTAZZO und LENDRUM (5) 1 Minute in frischem Aceton fixiert und danach 15 Minuten im Puffer gewaschen. Dann wurde unverdünntes Patientenserum mit 1:4 verdünntem Anti-Glucagon-Serum (Kan 56, 8. Abn.), 1:4 verdünntem Anti-Insulin-Serum (MS 202.5.104) respektive 1:50 verdünntem Anti-Somatostatin-Serum 1:1 gemischt und auf die Schnitte aufgebracht. Sämtliche Verdünnungen wurden mit PBS (pH 7,2) durchgeführt.

Anti-Glucagon-Serum wurde im Kaninchen und Anti-Insulin-Serum im Meerschweinchen produziert. Beide Anti-Hormon-Seren wurden im Diabetes-Forschungsinstitut in Düsseldorf gewonnen und dankenswerterweise zur Verfügung gestellt, ersteres von Frau J. BIENER, letzteres von Herrn U. KIESEL.

Das Kaninchen-Anti-Schweineglucagon wurde mit ^{125}J-markiertem Schweineglucagon (NOVO RESEARCH INSTITUTE, Bagsvaers, Dänemark), das Meerschweinchen-Anti-Rinderinsulin mit ^{125}J-markiertem Rinderinsulin (BEHRINGWERKE, Marburg) im Radioimmunoassay auf seine Spezifität überprüft und diese bestätigt (J. BIENER und U. KIESEL).
Anti-Somatostatin-Serum wurde im Kaninchen produziert. Es wurde von Prof. Dr. H. MÜNTEFERING, Pathologisches Institut der Universität Düsseldorf, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Nach einstündiger Inkubation schloß sich wieder ein Waschvorgang an. Nun wurde FITC-konjugiertes Anti-Human-Serum (vom Schaf) gemischt mit Tetramethylrhodamin-Isothiocyanat (TRITC)-konjugiertem Anti-Kaninchen-Serum (von der Ziege) respektive Anti-Meerschweinchen-Serum (von der Ziege) auf die Schnitte gegeben und 30 Minuten inkubiert. Die drei FITC-Antiseren wurden in einer Verdünnung von 1:4, die

zwei TRITC-Antiseren in einer Verdünnung von 1:10 verwendet.

Die TRITC-konjugierten Anti-Tierseren wurden von der Firma CAPPEL bezogen.

Anschließend wurde wieder gewaschen und die Schnitte mit Glycerol-Glycin-Puffer (pH 8,6) eingedeckt.

Die doppelte Immunfluoreszenzmethode wurde auch ohne Mischung der einzelnen Seren respektive Antiseren getrennt durchgeführt, i.e. aufeinanderfolgende Inkubationen in der Reihenfolge:

1.) Patienten-Serum
2.) Anti-Human-Ig FITC-konjugiert
3.) Anti-Glucagon-/-Insulin-/-Somatostatin-Serum
4.) Anti-Kaninchen-Ig-/Anti-Meerschweinchen-Ig-TRITC-konjugiert

mit entsprechend dazwischenliegenden Waschvorgängen.
Es zeigte sich jedoch bei der zuerst beschriebenen Durchführung der doppelten Immunfluoreszenzmethode eine bessere Qualität der fluoreszenzmarkierten Schnitte bei gleichem Resultat.

5. Kontrollen (5)

Als Kontrolle der einfachen Immunfluoreszenzmethode diente ein ICA-negatives Serum eines Nicht-Diabetikers.
Einige ICA-positive Seren wurden nach Vorbehandlung der Schnitte mit Anti-Insulin- oder Anti-Glucagon-Serum untersucht. Es ergab sich keine Hemmung der Inselzell-Antikörper. Diese Beobachtung zeigte, daß das bindende Antigen nicht hormonaler Natur ist.

Bei der Doppel-Immunfluoreszenzmethode wurden folgende Kontrollen durchgeführt:

1) Die Gewebeschnitte wurden in umgekehrter Reihenfolge beschichtet, also zuerst Anti-Hormon-Serum, um Blockierungsphänomene zwischen den einzelnen Seren respektive Antiseren auszuschalten.
2) Schnitte wurden nur mit einem Serum und beiden Konjugaten respektive mit beiden Seren und nur einem Konjugat beschichtet, um mögliche Kreuzreaktionen zwischen den verschiedenen Spezies zu erkennen.
3) Schnitte wurden mit Kaninchen- respektive Meerschweinchen-Normalserum und den verschiedenen Konjugaten beschichtet, um Kreuzreaktionen zwischen den verschiedenen Spezies auszuschließen.
4) Als weitere Kontrolle wurden aufeinanderfolgende Gewebeschnitte nur mit der einfachen Immunfluoreszenzmethode untersucht, um zu prüfen, ob sich die Fluoreszenz auf dieselbe Stelle lokalisierte wie bei der doppelten Immunfluoreszenztechnik.

E R G E B N I S S E

1. Analyse der Seren auf ICA (Fluoreszenz der ganzen Insel)

Insgesamt konnten bei 327 Patienten (82,2 %) Inselzell-Antikörper (ICA), und zwar ausschließlich von der Klasse IgG, gefunden werden (Tab. 1). 71 Patienten (17,8 %) waren ICA-negativ. Es zeigte sich nur eine geringe Differenz zwischen den Geschlechtern: 82,5 % der männl. und 81,8 % der weiblichen Patienten reagierten ICA-positiv.

Im Patientenkollektiv "1" (Tab. 2) reagierten 300 Patienten (82,9 %) ICA-positiv, 62 Patienten (17,1 %) ICA-negativ. Von den 187 männl. Patienten waren 81,8 %, von den 175 weibl. Patienten 84 % ICA-positiv.

Im Patientenkollektiv "2" (Tab. 3) zeigte sich bei 27 (75 %) von 36 Patienten ICA, 9 Patienten (25 %) waren ICA-negativ. Von den 13 männl. Patienten waren 12 (92,3 %), von den 23 weibl. Patienten dagegen nur 15 (65,2 %) ICA-positiv.

Zur Feststellung der Dauer der ICA-Persistenz wurde eine Verlaufsstudie an einigen Patienten von Kollektiv "1" mittels einfacher indirekter Immunfluoreszenztechnik durchgeführt (Tab. 4). Diese Studie ergab bei 4 (11,4 %) von 35 Patienten, die kurz nach Manifestation des Diabetes mellitus ICA-positiv waren, ein Verschwinden der Inselzell-Antikörper nach einem Jahr. Es handelte sich dabei ausschließlich um weibl. Patienten (Tab. 5).

Die absolute und prozentuale Verteilung ICA-positiver wie auch -negativer Patienten läßt sich aufgeschlüsselt nach

Geschlecht und Alter aus den Tabellen 6 und 7 entnehmen. Die Altersverteilung der Patienten von Kollektiv "1" ist in Abb. 1, die Alters- und Geschlechtsverteilung der ICA-positiven Patienten von Kollektiv "1" in Abb. 2 graphisch dargestellt.

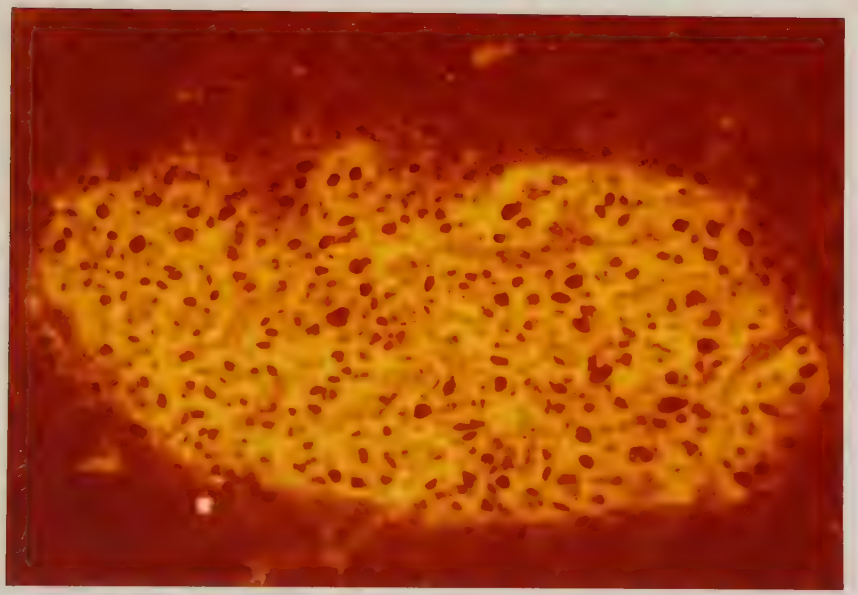
Das Fluoreszenzmuster der Inselzell-Antikörper war uniform (4,23): Sämtliche Zellen der Langerhansschen Inseln, also A-, B- und D-Zelle zeigten homogene zytoplasmatische Fluoreszenz (Abb. 3).
Die Helligkeit der fluoreszierenden Inseln war bei den verschiedenen ICA-positiven Seren unterschiedlich intensiv.

In allen ICA-positiven Seren, bei denen also die gesamte Insel fluoreszierte, gehörten die Antikörper zur Klasse der IgG. Mit Anti-IgA-FITC und Anti-IgM-FITC blieben die Inseln ohne Fluoreszenz; Ausnahmen hiervon bildeten die Fälle mit Teilfluoreszenz.
Auf den Gewebeschnitten, die mit Normalserum eines Nicht-Diabetikers behandelt worden waren, konnten die Inseln aufgrund der im UV-Licht des Fluoreszenzmikroskopes fehlenden Unterscheidbarkeit nicht fluoreszenzmarkierter exokriner und endokriner Zellen gar nicht oder nur mit Mühe identifiziert werden.

2. Analyse der Seren auf Inselzelltyp-spezifische Antikörper (Teilfluoreszenz)

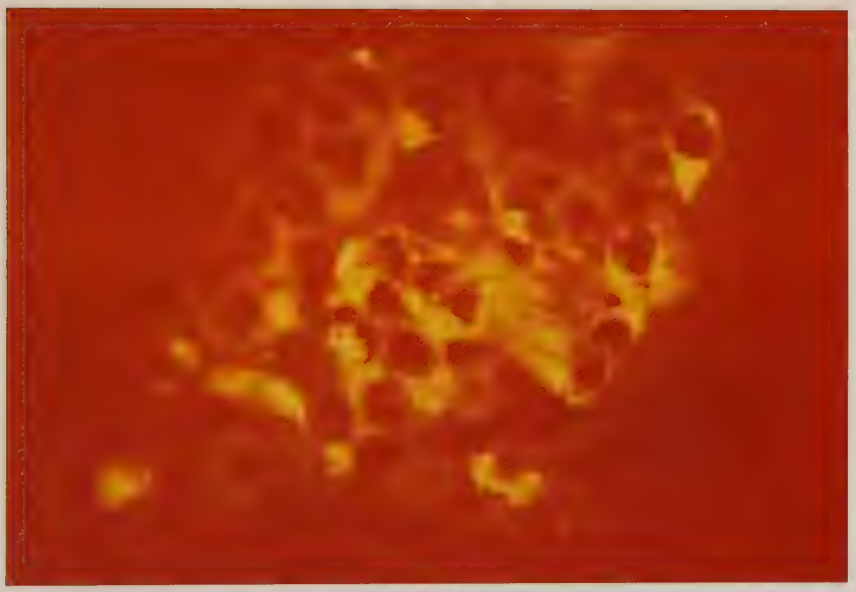
Bei Inselteilfluoreszenz fluoreszierten nur die Zellen eines bestimmten Zelltyps. Die übrigen Zellen der Inseln zeigten keine Fluoreszenz (Abb. 4 - 6).
Bei drei Patienten konnten Antikörper gegen die A-Zelle ermittelt werden. Die A-Zell-Antikörper gehörten in zwei Fällen, bei denen sich außerdem Inselzell-Antikörper der

Abbildung 3:



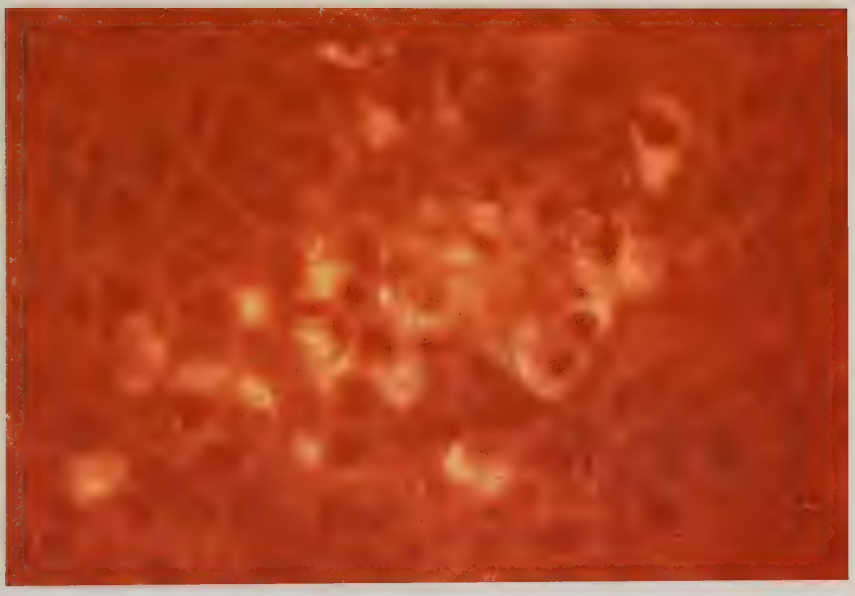
Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis von ICA
in menschlichem Serum.
Menschliches Inselgewebe.
100 µm

Abbildung 4:



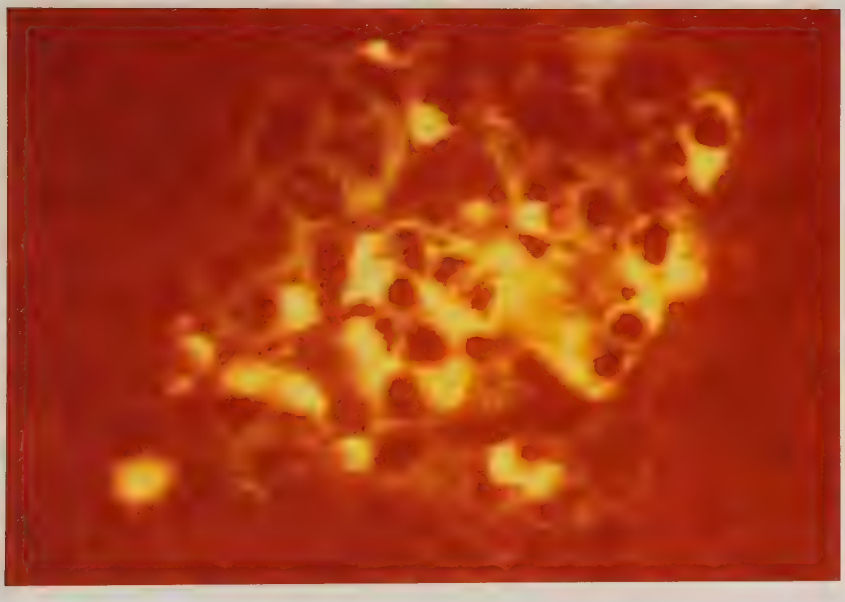
Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis von Inselzelltyp-spezifischen Antikörpern in menschlichem Serum.
Menschliches Inselgewebe.
10 µm ⟼

Abbildung 5:



Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis von
A-Zellen in menschlichem Inselgewebe.
10 µm ⟼

Abbildung 6:



Bei Aufeinanderprojektion der Abbildungen 4 und 5 erscheinen alle fluoreszierende Zellen in gelber Farbe. Demnach hat der Antikörper des Serums alle A-Zellen und lediglich A-Zellen markiert.

10 µm ⟼

IgG-Klasse fanden, zur Klasse der IgM und in einem Fall, der ausschließlich A-Zell-Antikörper besaß, zur Klasse der IgG (Tab. 8).
Bei zwei anderen Patienten konnten Antikörper gegen die D-Zellen festgestellt werden; sie gehörten in beiden Fällen zur Klasse der IgG (Tab. 8). Bei einem dieser beiden Patienten waren auch Inselzell-Antikörper von der Klasse der IgG vorhanden, jedoch mit niedrigerem Titer so daß man die D-Zellen wesentlich heller fluoreszieren sah als die übrigen Zelltypen des endokrinen Pankreas.
In zwei weiteren Fällen, bei denen ICA der IgG-Klasse bestanden, konnten Teilfluoreszenzen von der IgA-Klasse ausgemacht werden, die nicht mit der A-, B- oder D-Zelle identisch waren (Tab. 8). Insgesamt konnten also 7 Fälle von Inselzelltyp-spezifischen Antikörpern unter 398 Patienten gefunden werden, und zwar 3 gegen die A-Zelle, 2 gegen die D-Zelle und 2 weitere, deren Zelltyp nicht identifiziert werden konnte. Zusätzlich zu den Inselzelltyp-spezifischen Antikörpern wiesen 5 von diesen 7 Patienten auch ICA auf.

Isoliert gegen die B-Zellen gerichtete Antikörper wurden in keinem Fall beobachtet.
Der Nachweis von Anti-HPP-Zell-Antikörpern war nicht möglich.

D I S K U S S I O N

In dieser Diskussion soll nur auf Inselzell-Antikörper bei Insulin-abhängigen Diabetikern näher eingegangen werden. Bei Insulin-unabhängigen, sog. Erwachsenen-Diabetikern treten Inselzell-Antikörper in bis zu 12 % auf (4, 8, 9, 15, 18, 19, 33).

1. ICA (Antikörper gegen die gesamte Insel)

Die Entdeckung von Inselzell-Antikörpern bei Diabetikern im Jahre 1974 lieferte einen direkten Hinweis zur Unterstützung der Hypothese einer autoimmunen Form des Diabetes mellitus (4, 23). Von BOTTAZZO et al. (4) wurden erstmals bei 13 Patienten mit Polyendokrinopathien mit organspezifischer Autoimmunität, unter denen sich 10 Diabetiker (9 Insulin-abhängige und 1 Insulin-unabhängiger Diabetiker) befanden, komplementbindende Antikörper von der Klasse der IgG gegen Pankreas-Inselzellen beschrieben. Da 2 der 10 Diabetiker erst innerhalb eines Jahres nach Entdeckung der Antikörper Diabetes mellitus-Symptome entwickelten, vermuteten sie eine pathogenetische Bedeutung der Antikörper für die Ätiologie des Diabetes mellitus. Ob bei den 3 von den 13 Patienten mit ICA aber ohne Diabetes mellitus bereits eine gestörte Glucose-Toleranz vorlag, wurde von den Autoren nicht geprüft (4). Bei mehreren Patienten bestand der Diabetes schon längere Zeit. Die Antikörper standen in keiner Beziehung zur Insulin-Therapie, da 5 dieser Patienten noch kein Insulin erhalten hatten. Außerdem war das zytoplasmatische Immunfluoreszenzmuster sehr verschieden von dem der von MANCINI et al. (25) beschriebenen Insulin-Antikörper, die nur von B-Zellen gebunden wurden, während die von BOTTAZZO et al. gefundenen Antikörper mit sämtlichen Inselzellen reagierten.

Als mögliche Gründe für das lange Zeit vergebliche Bemühen, Inselzell-Antikörper aufzuspüren, werden drei Überlegungen angeführt:

1. Es seien unselektierte Diabetiker untersucht oder Fälle, bei denen Dm mit anderen Autoimmunerkrankungen assoziiert war, ausgeschlossen worden (4, 23).
2. Die früheren UV-Mikroskope hätten eine viel schlechtere Sichtbarmachung ermöglicht als die heutigen Auflichtmikroskope (3).
3. Inselzell-Antikörper riefen im Vergleich zu der starken Helligkeit zytoplasmatischer Schilddrüsen-, Magen- und Nebennieren-Antikörper nur eine schwächere Fluoreszenz hervor (3, 32).

Wie BOTTAZZO et al. (4) waren MACCUISH et al. (23) der Überzeugung, daß ICA bei Diabetikern ohne andere Autoimmunerkrankungen ungewöhnlich sei. Sie hatten unter 40 Diabetikern mit Nebennieren- oder Schilddrüsen-Antikörpern 5 Patienten mit Inselzell-Antikörpern gefunden, während 25 Diabetiker ohne organspezifische Serum-Antikörper, ebenso wie 40 nicht-diabetische Kontrollpersonen ICA-negativ waren.

LENDRUM et al. (20) beschrieben bei 51 (48,6 %) von 105 Patienten unter 18 Jahren, bei denen der Dm erst jüngst diagnostiziert worden war, ICA von der Klasse der IgG. Schilddrüsen- und Magenschleimhaut-Antikörper wurden nur bei 10 der ICA-positiven Kinder gefunden. Mit dieser Arbeit wurde somit die Annahme, daß ICA nur bei Patienten mit anderen Autoimmunkrankheiten auftreten, widerlegt und die bis dahin berichtete Rarität von ICA bei erwachsenen Diabetikern in Gegensatz zu der gefundenen Häufigkeit bei Diabetikern unter 18 Jahren gesetzt.

Eine Übersicht der in den letzten Jahren erschienenen Veröffentlichungen über Inselzell-Antikörper bei Insulin-abhängigen Diabetikern ist in Tabelle 9 zusammengestellt.

Der Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Studie mit denen anderer Autoren ergibt eine sehr große Variabilität der ICA-Prävalenz.
Wie schon angeführt, fanden LENDRUM et al. (20) bei 48,6 % ihrer Patienten Inselzell-Antikörper. Sie haben jedoch 32 Fälle mit schwacher Inselfluoreszenz nicht mitgerechnet. Wertet man diese 32 Patienten als ICA-positiv, so erhält man eine ICA-Prävalenz von 79 %. Dieser Prozentsatz kommt dem in dieser Studie gefundenen Ergebnis in Kollektiv "1" mit 82,9 % sehr nahe. In vorliegender Arbeit wurden alle Fälle, bei denen im Vergleich zum Kontroll-Serum eine Fluoreszenz feststellbar war, also auch schwache Immunfluoreszenzen, als positiv gewertet.
Später beschreiben LENDRUM et al. (18) bei Blutabnahmen nach einwöchiger Krankheitsdauer 85 %iges ICA-Vorkommen, nach vierwöchiger Krankheitsdauer 50 %iges. In einem Diskussionsbeitrag (16) berichtete er von einer 86 %igen Inzidenz der Inselzell-Antikörper bei Patienten, die innerhalb einer Woche nach Auftreten von Symptomen des Diabetes mellitus getestet wurden. Die ICA-Prävalenz fiel innerhalb 7 Wochen auf ein Niveau von 40 %. In beiden letztgenannten Untersuchungen LENDRUM's sind sämtliche Altersgruppen eingeschlossen.

MÜNTEFERING et al. (30) untersuchten 40 Diabetiker unter 30 Jahren innerhalb von 3 Monaten nach Krankheitsbeginn und stellten in 70 % der Fälle ICA fest.

LUDWIG et al. (22) fanden bei Untersuchungen auf Antikörper unmittelbar nach Krankheitsbeginn in 64 % ICA. Das Alter und die Anzahl dieser juvenilen Patienten wurden hier nicht angegeben.

BUSCHARD et al. (6) untersuchten 50 Diabetiker: Bei einwöchiger Krankheitsdauer zeigte sich eine 58 %ige, bei vierwöchiger eine ICA-Prävalenz von 37 %.

CUDWORTH et al. (7) fanden bei unter 30jährigen mit 0-18tägiger Krankheitsdauer eine ICA-Häufigkeit von 58 %.

IRVINE et al. (15) stellten bei 65 % der innerhalb eines Monats nach Manifestation des Dm untersuchten Patienten Inselzell-Antikörper fest. Diese Patienten waren bis zu 80 Jahre alt, zumeist jedoch zwischen 10 und 30 Jahren. IRVINE beobachtete, daß bei "maturity onset" Diabetikern, die Dm erst nach dem 40. Lebensjahr entwickelten und Insulin-abhängig sind, die ICA-Prävalenz grundsätzlich derjenigen bei "juvenile onset" Diabetikern gleicht, andererseits betont er, daß die Anzahl seiner Patienten der älteren Gruppe zu klein für eine Analyse sei.

PUJOL-BORRELL et al. (33) fanden unter 17 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 12,7 Jahren und Untersuchung innerhalb von 8 Wochen nach Diagnose 13 Patienten (76 %) mit ICA.

Nur die Kollektive von LENDRUM et al. (20) und PUJOL-BORRELL et al. (33) lassen sich mit Kollektiv "1" dieser Studie vergleichen, da nur sie im Alter der Patienten und zugleich in dem Zeitraum zwischen Manifestation des Diabetes mellitus und der erfolgten Blutabnahme übereinstimmen.

Die starken Diskrepanzen der ICA-Prävalenz der anderen Autoren könnten zum einen auf unterschiedlichen Altersgruppen, zum anderen auf verschieden langen Intervallen zwischen Manifestation des Dm und Blutentnahme zur Antikörperuntersuchung beruhen. Andererseits ist es auch möglich, daß manche Untersucher schwache Immunfluoreszenzen als negativ werteten. Ebenso könnten regionale Unterschiede eine Rolle spielen.

Aus dem Ergebnis von Kollektiv "2" läßt sich aufgrund der geringen Zahl der untersuchten Patienten keine statistisch gesicherte Aussage treffen. Trotzdem ist die hohe ICA-Frequenz von 75 % nach zum Teil langjähriger Krankheitsdauer beachtenswert und deutet bei Annahme einer Prävalenz von 80 % zur Zeit der Manifestation auf eine lange Persistenz hin.

Auch diejenigen ICA-positiven Patienten aus Kollektiv "1", die nach einem Jahr wiederholt getestet wurden, wiesen eine hohe, 88,6 %ige, ICA-Prävalenz auf.
Diese beiden Resultate weichen stark von anderen Publikationen ab:

DEL PRETE et al. (9) testeten zwar ICA-positive Patienten nach einem Jahr erneut, die Erstuntersuchung war aber nicht kurz nach der Manifestation des Dm erfolgt. Von 17 ICA-positiven Patienten unter 35 Jahren zeigten 23,5 % ein Jahr später persistierende Inselzell-Antikörper. Von 31 ICA-positiven Patienten über 35 Jahre hatten nur 2 Patienten nach einem Jahr einen Titer-Abfall.

MORRIS et al. (29) fanden bei 59 % der untersuchten Insulinabhängigen Diabetiker innerhalb eines Jahres nach Diagnose des Dm ICA. Danach fiel der Prozentsatz stark ab.

Die anderen Autoren (9, 15, 18, 22, 33, 35) beschreiben eine ICA-Prävalenz zwischen 50 % und 3 % bei ein- bis mehr als 20jähriger Krankheitsdauer.
Die Ergebnisse von IRVINE et al. (15), LUDWIG et al. (22) und LENDRUM (16) stimmen bezüglich der Abnahme der Inselzell-Antikörper bei zunehmender Krankheitsdauer relativ gut miteinander überein. LENDRUM berichtete einmal (16) bei einjähriger Krankheitsdauer von 50 % ICA-positiven Patienten, und bei 3- bis 20jähriger Krankheitsdauer von unter 20 % ICA-positiven Patienten, ein anderes Mal (18) jedoch bei mehr als einjähriger Dauer des Dm von nur 10 % - 20 % ICA-positiven Patienten.

Die Abnahme der Inselzell-Antikörper mit der Diabetes-Dauer bestätigt auch die Untersuchung von DEL PRETE et al. (9); hier liegt die ICA-Prävalenz bei unter 35jährigen und ein- bis mehr als 10jähriger Krankheitsdauer konstant bei ca. 20 %, während bei über 35jährigen die ICA-Prävalenz zwar bei ein- bis 5jähriger Dauer des Diabetes mellitus gleichfalls bei ca. 20 % liegt, dann aber bei mehr als 5jähriger Dauer des Dm auf 12,2 % abfällt.

Von Wichtigkeit erscheint die Feststellung LENDRUM's (16), daß der Abfall der ICA bei unter 15jährigen Patienten nicht augenscheinlich ist, was die vorliegende Studie auch gezeigt hat, da nur vier von 35 ICA-positiven Kindern nach einem Jahr keine Antikörper hatten.

Zu diskutieren ist auch ein Auftreten von Inselzell-Antikörpern im Verlauf der Krankheit. BUSCHARD et al. (6) fanden unter 38 Patienten mit einer mittleren Krankheitsdauer von 3,2 Jahren in 55 % der Fälle ICA, während 58 % der Patienten ICA aufwiesen, die innerhalb einer Woche, und 37 % der Patienten, die vier Wochen nach Manifestation

des Diabetes mellitus getestet wurden. Leider sind hier keine Altersangaben beigefügt. Die fast ebenso hohe ICA-Inzidenz nach durchschnittlich 3,2jähriger Dauer des Dm wie nach einer Woche ist auffällig, zumal die ICA-Frequenz nach vier Wochen abgesunken war. Einerseits wäre ein je nach Manifestationsalter des Diabetes mellitus unterschiedlich starker Abfall der ICA-Frequenz mit zunehmender Krankheitsdauer möglich, andererseits könnten bei Beginn des Dm ICA-negative Patienten im Verlauf des Dm nach Monaten oder gar Jahren eine Antikörper-Produktion entwickeln. Vielleicht läßt sich die 75 %ige ICA-Frequenz in Kollektiv "2" dieser Studie durch solche zeitlichen Unterschiede im Auftreten der Inselzell-Antikörper erklären. Hierüber kann man derzeit jedoch nur spekulieren, da systematische Verlaufsstudien fehlen. Derartige Überlegungen lassen auch an unterschiedliche Pathogenesen beim Diabetes mellitus denken.

BOTTAZZO et al. (3) stellten in einer Untersuchung von 120 Diabetikern mit endokrinen Autoimmunkrankheiten bei 46 (38 %) ICA fest.
BOTTAZZO et al. (2, 3) postulieren zwei Insulin-abhängige Diabetes-Typen (Tab. 10).
DEL PRETE et al. (8) schließen sich dieser Klassifikation an.
In Einklang damit steht auch die Beobachtung von IRVINE et al. (15), die eine statistisch signifikante Differenz in der Prävalenz von ICA bei Insulin-behandelten Diabetikern mit Autoimmunerkrankungen (38 %) und ohne Autoimmunkrankheiten (22 %) fanden.

IRVINE et al. (14) beschrieben bei 8 von ihren 31 ICA-positiven Patienten mit Autoimmunerkrankungen einen diabetischen Glucose-Toleranztest. Bei zwei von diesen waren zur Zeit des Glucose-Toleranztestes die Inselzell-Antikörper schon nicht mehr nachweisbar. Sie folgerten daraus,

ICA könnte bei Normalpersonen einer diabetischen Erkrankung um Jahre vorausgehen und damit Zeichen eines künftigen Dm sein.

Eine 19 %ige ICA-Inzidenz bei Jugendlichen und eine 13 %ige bei Erwachsenen mit "chemical" Diabetes beobachteten auch DEL PRETE et al. (9). Drei Patienten mit "chemical" Diabetes entwickelten einige Monate nach dem Nachweis hoher und persistierender ICA-Titer einen Insulin-abhängigen Diabetes (9). Nach ihrer Meinung (9) ist es unklar, ob ICA ein Mixtum von gemeinsam vorkommenden Antikörpern mit drei verschiedenen Spezifitäten, anti-A-, anti-B- und anti-D-Zelle, ist. Sie meinen eher, daß ICA gegen einen Zelltyp (B-Zelle) gerichtet ist und mit antigenen Determinanten der anderen Inselzellen kreuzreagiert:
Da ca. die Hälfte der Patienten mit persistierenden Antikörpern gegen das endokrine Pankreas zugleich andere organspezifische Autoantikörper aufwies, da zweitens ICA-positive Personen mit "chemical" Diabetes ein signifikant häufigeres gleichzeitiges Auftreten von anderen organspezifischen Antikörpern zeigten und da schließlich 20 nicht-diabetische ICA-positive Patienten in ihrer Mehrheit ebenfalls andere organspezifische Antikörper hatten, folgerten DEL PRETE et al., daß ICA wahrscheinlich keine direkte pathogenetische Rolle im Dm spielen und nur ein mittelbares Zeichen von anderen Immun- oder Autoimmun-Mechanismen darstellen, die eine Insulinabhängigkeit induzieren.

LUDWIG et al. (22) fanden bei zunehmender Verdünnung ICA-positiver Seren gelegentlich eine unterschiedlich intensive Reaktion mit einzelnen Zellen des Inselapparates.
Es ist derzeit noch unklar, ob dies auf eine Reaktion der ICA mit verschiedenen Antigenen zurückzuführen ist,

oder ob die spezifischen Antigene in den verschiedenen Zellen in unterschiedlicher Konzentration vorliegen.

Daß Inselzell-Antikörper bei Nicht-Diabetikern nicht in der aufgezeigten hohen Prävalenz wie bei Diabetikern auftreten, zeigt die Zusammenstellung von verschiedenen Veröffentlichungen in Tabelle 11. Gesunde Normalpersonen wiesen eine ICA-Inzidenz bis zu 1,7 %, Patienten mit Autoimmunerkrankungen eine zwischen 1,7 % und 5,6 % und Verwandte von Diabetikern eine 4 %ige auf.

Die Altersverteilung von Kollektiv "1" ergibt eine Häufung der Manifestation des Diabetes mellitus im Alter von 8 bis 13 Jahren (Tab. 6 und 7, Abb. 1 und 2). Dieser Befund ähnelt dem Ergebnis einer Untersuchung von über 2000 Diabetikern zwischen 0 und 15 Jahren durch BLOOM et al. (1). Es wurde unter anderem ein Gipfel der Manifestation des Diabetes mellitus bei 11 Jahren festgestellt. Auch CUDWORTH et al. (7) bestätigen diesen Manifestationsgipfel.

Zu bemerken ist noch, daß ILLENI et al. (12) zwei Diabetiker mit ICA der Klasse IgA und DEL PRETE et al. (9) einen Patienten mit ICA der Klasse IgA und IgG fanden, während alle anderen Autoren nur IgG-Antikörper beschrieben haben.

2. Antikörper gegen einzelne Zelltypen des Inselapparates

Separate Antikörper gegen Glucagon-und Somatostatin-produzierende Zellen im menschlichen Pankreas entdeckten erstmals BOTTAZZO und LENDRUM im Jahre 1976 mittels der doppelten indirekten Immunfluoreszenzmethode (5).
Die Antikörper waren gegen intrazelluläre Komponenten und nicht gegen die Hormone selbst gerichtet. Unter 1279 Seren fanden sie 13 mit Antikörpern gegen die A-Zellen und

und 4 mit Antikörpern gegen die D-Zellen. Unter diesen 13 Personen mit Antikörpern gegen die A-Zellen befanden sich nur 8 Diabetiker vom Insulin-abhängigen Typ, 3 von diesen wiesen auch Inselzell-Antikörper der Klasse IgG auf. Die Antikörper gegen die A-Zellen waren teils von der IgG-, teils von der IgM-Klasse, die Antikörper gegen die D-Zellen waren in allen 4 Fällen von der IgG-, in einem Serum jedoch zusätzlich auch von der IgA-Klasse.

Auch DEL PRETE et al. stellten bei zwei nicht-diabetischen Patienten Glucagon-Zell-Antikörper fest, und zwar je einmal von der IgG- und IgM-Klasse (9). Eine normale Glucagon-Suppression durch induzierte Hyperglykämie in beiden Patienten zeigte eine unbeeinflußte A-Zell-Funktion (10).

In dieser Studie wurden nur drei Patienten mit A-Zell-Antikörpern und zwei Patienten mit D-Zell-Antikörpern gefunden; dies macht die große Rarität von Antikörpern gegen einzelne Zelltypen des endokrinen Pankreas bei Diabetikern deutlich (Tab. 8).

Aufgrund der wenigen Befunde von Zelltyp-spezifischen Antikörpern konnten bisher noch keine Aussagen über Ätiologie und Konsequenzen eines A- respektive D-Zell-Schadens getroffen werden.

Ein äußerst auffälliger Befund ist, daß keine isoliert gegen B-Zellen gerichtete Antikörper nachgewiesen werden konnten. Dieser Nachweis ist bisher noch keinem Untersucher gelungen. Für dieses Phänomen lassen sich methodische Gründe nicht finden. Man muß demnach annehmen, daß es keine isolierten B-Zell-Antikörper gibt. Möglicherweise kann man diesen Befund so erklären, daß im Falle einer B-Zell-Destruktion entweder gleichzeitig alle anderen Zelltypen

des Inselapparates auch geschädigt werden, oder daß die infolge der B-Zell-Destruktion produzierten Antikörper auch mit Antigenen der anderen Zelltypen reagieren. Bei der letzteren Annahme bleibt aber der Einwand bestehen, warum die A-Zellen- und D-Zellen-Antikörper nicht auch gleichzeitig mit Antigenen der B-Zellen reagieren. Vielleicht sind aber auch isolierte B-Zell-Antikörper noch seltener als die gegen die A- und D-Zellen, so daß sie in den verhältnismäßig kleinen bisher untersuchten Patienten-Kontingenten nicht aufgefunden werden konnten.
Antworten auf diese Fragen können nur künftige, in großem Stil angelegte Untersuchungen erbringen.

3. Pathogenetische und klinische Relevanz von Immunmechanismen beim Diabetes mellitus

Eine Beteiligung immunologischer Prozesse bei der Entstehung des Diabetes mellitus wird diskutiert, weil folgende Beobachtungen vorliegen:

1. Lymphozytäre Infiltrationen (Insulitis) bei juvenilen Diabetikern, die kurze Zeit nach Manifestation des Diabetes mellitus verstarben (11, 27, 34).
2. Coexistenz mit autoimmunologischen Erkrankungen bei einigen Diabetikern (13, 28, 31, 36).
3. Humorale zytoplasmatische Inselzell-Antikörper (3, 6, 7, 9, 12, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 29, 30, 33, 35).
4. Humorale Inselzelloberflächen-Antikörper (21).

Erstaunlich ist jedoch, daß man diese Immunprozesse nicht bei allen Diabetikern gleichermaßen vorfindet,

und daß bei getrennter Betrachtung der beiden Typen des Diabetes mellitus, des juvenilen Diabetes und des Altersdiabetes, keine Einheitlichkeit diesbezüglich gegeben ist. Außerdem wurden humorale Inselzell-Antikörper teilweise bei Personen mit pathologischem Glucosetoleranztest festgestellt, von denen einige mehrere Monate später einen Insulin-abhängigen Diabetes entwickelten (9, 14). In geringer Anzahl findet man ICA bei nicht-diabetischen Patienten mit Polyendokrinopathien mit organspezifischer Autoimmunität (4, 9, 14, 15) und in einem noch kleineren Prozentsatz bei nicht-diabetischen Personen (9, 12, 15, 18, 20, 23, 26, 33), unter denen aber Verwandte von Diabetikern wiederum eine etwas höhere ICA-Prävalenz aufweisen (26). Auf die unterschiedliche ICA-Inzidenz und ICA-Persistenz wurde in dieser Studie mehrfach hingewiesen.

Diese Beobachtungen zeigen, daß erstens Antikörper gegen Inselzellen lange oder erst kurz vor Manifestation des Diabetes mellitus auftreten können, daß zweitens diese Antikörper bei einem Teil der Diabetiker nicht nachweisbar sind, und daß drittens auch gesunde Personen diese Antikörper besitzen können.

Aufgrund der die Inselzell-Antikörper betreffenden Inhomogenität der Patienten ist es denkbar, daß Autoimmunmechanismen nicht als alleinige Entstehungsursache des Diabetes mellitus zu betrachten sind und mindestens bei einem Teil der Patienten sekundär durch ein (oder mehrere?) Agens induziert werden. Dieses Agens könnte ein Virus sein.

BOTTAZZO et al. (2, 3) postulieren zwei ätiologische Typen des Insulin-abhängigen Diabetes mellitus (Tab. 10):

1. fragliche Virusätiologie
2. in Verbindung mit organspezifischer Autoimmunität.

Als weiterer möglicher ätiologischer Faktor käme eine genetische Disposition in Betracht.

NERUP et al. (32) fanden, daß der Insulin-abhängige Diabetes signifikant mit bestimmten HLA-Antigenen assoziiert ist, und sie schließen daraus, daß zwei Gene zum Insulin-abhängigen Diabetes auf verschiedenen Wegen prädisponieren, daß aber diese Gene wohl notwendig, jedoch nicht hinreichend sind, einen Insulin-abhängigen Diabetes auszulösen. Noch unbekannte peristatische Faktoren seien als Trigger des Mechanismus, der zur B-Zell-Destruktion führt, notwendig.
Weitere Faktoren, wofür man noch keine Erklärungen hat, sind bestimmte Altersgipfel und jahreszeitliche Schwankungen im Auftreten des Diabetes mellitus. So wurde ein Gipfel bei 5 und 11 Jahren beschrieben, wobei sich bei den Diabetikern, die diese Krankheit mit elf Jahren acquirierten, ein Gipfel im Herbst und eine erhöhte Inzidenz in den Monaten von Dezember bis März zeigte (1). Die jahreszeitlichen Schwankungen könnten auf Umwelteinflüsse hinweisen. Die angeführten verschiedenen pathogenetischen Hypothesen deuten auf die ungeklärten Probleme der Ätiologie des Diabetes mellitus hin.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß ein alleiniger Immunprozeß als pathogenetische Ursache für die Entstehung des juvenilen Diabetes mellitus wenig wahrscheinlich ist. Eine Beteiligung weiterer Agentien (z.B. Viren oder B-Zell-toxische Substanzen in der Umwelt) ist zu vermuten. Dieses noch unbekannte Agens könnte je nach Disposition

(z.B. genetische und/oder peristatische Faktoren) des jeweiligen Patienten eine unterschiedliche Inkubationszeit bis zur Manifestation des Diabetes mellitus benötigen, und außerdem bei einem Teil der Patienten nach verschieden langer Latenz zur Bildung von Inselzell-Antikörpern, seien sie humoraler oder zellulärer Natur, z.B. infolge von Antigenfreisetzung der Inselzellen führen. Diese Antikörper könnten dann wiederum als Cofaktor in der weiteren Pathogenese des Diabetes mellitus eine Rolle spielen.

Über eine klinische Bedeutung dieser Antikörper kann derzeit noch keine Aussage gemacht werden, da ihre genaue Rolle in der Pathogenese des Diabetes mellitus noch nicht bekannt ist.

Z U S A M M E N F A S S U N G

In dieser Studie wurden 398 Insulin-abhängige Diabetiker mittels der indirekten Immunfluoreszenzmethode auf Antikörper gegen das endokrine Pankreas untersucht. 327 Patienten (82,2 %) waren ICA-positiv, 71 (17,8 %) waren negativ.

Aufgeschlüsselt nach einzelnen Kollektiven zeigte sich folgendes Bild:

300 (82,9 %) von 362 überwiegend unter 16 Jahren alten Patienten hatten innerhalb von 8 Wochen nach Manifestation des Diabetes mellitus Inselzell-Antikörper. 62 Patienten (17,1 %) waren ICA-negativ.

In einer Verlaufsstudie an 35 dieser ICA-positiven Patienten zeigten nach einem Jahr noch 31 Patienten (88,6 %) persistierende Inselzell-Antikörper.

In einem Patientenkollektiv, dessen Manifestation des Diabetes mellitus zwischen 3 Monaten und 28 Jahren zurücklag, wiesen 27 (75 %) von 36 Patienten ICA auf. Neun Patieten (25 %) waren ICA-negativ.

Sämtliche Inselzell-Antikörper gehörten zur Klasse der IgG.

Sieben Patienten aus dem Gesamtkollektiv hatten Inselzelltypspezifische Antikörper: 3 gegen die A-Zellen, 2 gegen die D-Zellen. Bei zwei weiteren Seren konnte das Antigen gegen das die Antikörper gerichtet waren, nicht identifiziert werden.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen deutlich, daß Inselzell-Antikörper bei Insulin-abhängigen Diabetikern äußerst häufig zu finden sind, und daß die Persistenz dieser Antikörper sehr hoch ist.
Die mögliche pathogenetische Bedeutung der Befunde wird diskutiert.

Tabelle 1

Prävalenz von ICA aller Patienten

(Tabelle 2 und 3 gemeinsam)

	männl.		weibl.		insgesamt	
	n = 200	(%)	n = 198	(%)	n = 398	(%)
ICA +	165	(82,5)	162	(81,8)	327	(82,2)
ICA -	35	(17,5)	36	(18,2)	71	(17,8)

Tabelle 2

Prävalenz von ICA im Patientenkollektiv"1"

Blutentnahme innerhalb von 8 Wochen nach Manifestation des Diabetes mellitus.
Alter der Patienten unter 16 Jahre, außer 7 Patienten über 16 Jahre.

	männl.		weibl.		insgesamt	
	n = 187	(%)	n = 175	(%)	n = 362	(%)
ICA +	153	(81,8)	147	(84)	300	(82,9)
ICA -	34	(18,2)	28	(16)	62	(17,1)

Tabelle 3

Prävalenz von ICA im Patientenkollektiv "2"

Intervall zwischen Manifestation des Diabetes mellitus und Blutentnahme 3 Monate bis 28 Jahre.
Manifestationsalter zwischen 3 und 46 Jahren.
Patientenalter zum Zeitpunkt der Blutentnahme 5 bis 59 Jahre.

	männl.		weibl.		insgesamt	
	n = 13	(%)	n = 23	(%)	n = 36	(%)
ICA +	12	(92,3)	15	(65,2)	27	(75)
ICA -	1	(7,7)	8	(34,8)	9	(25)

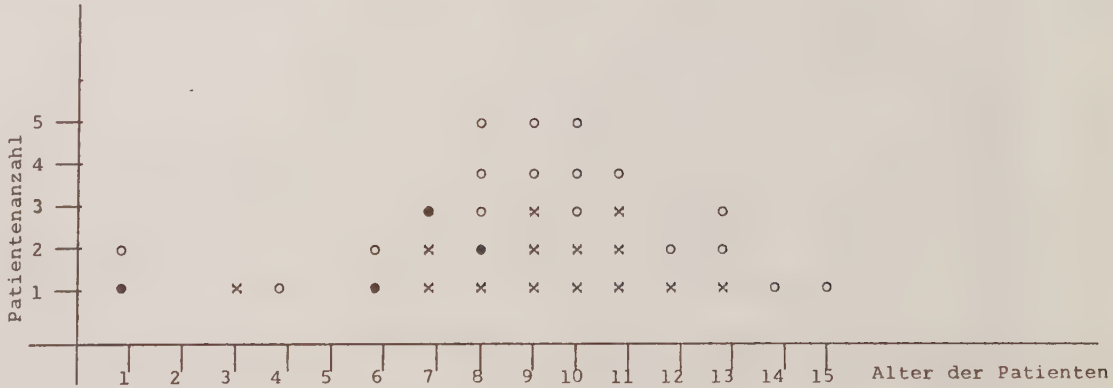
Tabelle 4

Ergebnis der ICA-Bestimmung bei ursprünglich ICA-positiven Patienten (n = 35) nach einjährigem Krankheitsverlauf.

	männl.		weibl.		insgesamt	
	n = 14	(%)	n = 21	(%)	n = 35	(%)
ICA +	14	(100)	17	(81)	31	(88,6)
ICA -	0		4	(19)	4	(11,4)

Tabelle 5

Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten in der Verlaufsstudie



× männliche Pat.

o weibliche Pat.

● weibliche Patienten, die nach einem Jahr ICA - negativ wurden

Tabelle 6

Altersverteilung der männlichen Patienten bei Blutentnahme

( ) Zeit zwischen Dm - Manifestation und Blutabnahme; M = Monate; J = Jahre.

Alter (Jahre)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ICA-positiv														
Kollektiv "1"	3	4	6	6	5	7	10	13	14	20	12	16	17	13
Kollektiv "2"	-	-	-	-	1 (21M)	1 (3J)	1 (1J)	-	-	-	-	-	2 (2J) (3M)	1 (4M)
ICA-negativ														
Kollektiv "1"	1	-	1	2	2	3	1	2	4	2	5	3	6	1

Alter (Jahre)	15	16	17	18	19	20	21	22	27	29	36	43	47
ICA-positiv													
Kollektiv "1"	2	1	1	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-
Kollektiv "2"	1 (4J)	-	1 (6M)	-	-	-	-	1 (6M)	2 (9M) (19M)	-	-	-	1 (7J)
ICA-negativ													
Kollektiv "1"	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kollektiv "2"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (16M)	-	-	-

Tabelle 7

Altersverteilung der weiblichen Patienten bei Blutentnahme

( ) Zeit zwischen Dm-Manifestation und Blutabnahme; M = Monate; J = Jahre.

Alter(Jahre)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
ICA-positiv															
Kollektiv"1"	3	5	2	2	12	9	5	17	18	19	22	14	12	3	2
Kollektiv"2"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (1J)	1 (6M)	-	1 (7,5J)	-	1 (5M)
ICA-negativ															
Kollektiv"1"	2	1	-	2	1	-	1	2	2	-	4	5	5	2	-
Kollektiv"2"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3 (6M) (1J) (10J)	-

Alter(Jahre)	16	17	18	19	20	21	24	25	26	29	30	33	35	37	59
ICA-positiv															
Kollektiv"1"	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kollektiv"2"	-	-	1 (6M)	-	1 (9M)	-	1 (14M)	1 (6M)	2 (32M) (5J)	2 (30M) (18M)	1 (3M)	1 (9M)	1 (7M)		
ICA-negativ															
Kollektiv"1"	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kollektiv"2"	-	2 (1J) (18M)	1 (3J)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (28J)	1 (13J)

Tabelle 8

Patienten mit Antikörpern gegen einzelne Zelltypen

Nr.	Geschlecht	Alter (Jahre)	ICA Ig-Klasse	A-Zell-AK Ig-Klasse	D-Zell-AK Ig-Klasse	Bemerkungen
1	weibl.	12	G	M	—	nur eine Blutabnahme vorhanden
2	männl.	13	—	G	—	Antikörper gegen A-Zelle nach einem Jahr noch vorhanden
3	männl.	10	G	M	—	Antikörper gegen A-Zelle nach einem Monat verschwunden
4	weibl.	7	—	—	G	Antikörper gegen D-Zelle nach 5 Monaten verschwunden
5	weibl.	5	G	—	G	Antikörper gegen D-Zelle nach einem Monat noch vorhanden
6	männl.	7	G	—	—	IgA-Teilfluoreszenz A-Zelle Ø,B-Zelle Ø,D-Zelle Ø
7	weibl.	30	G	—	—	IgA-Teilfluoreszenz A-Zelle Ø,B-Zelle Ø,D-Zelle Ø

Tabelle 9

ICA bei Insulin-abhängigen Diabetikern (Literaturübersicht)

Autor (Ref.)	Jahr	Gesamt-zahl	davon ICA	Intervall zwischen Dm-Manifestation u. Blutabnahme	Patienten-alter
LENDRUM et al. (20)	1975	105	51 (48,6 %) 32 mit schwacher IFL	kurz nach Beginn	unter 18 J.
LENDRUM et al. (18)	1976	829 davon 20	319 (38 %) 17 (85 %) 50 % 10-20 %	417 unter 1 J. 412 bis 48 J. 1 Woche 4 Wochen über 1 Jahr	473 unter 20 J. 151 über 40 J.
BOTTAZZO et al. (3)	1976	120	46 (38 %)		
MÜNTEFERING et al. (30)	1976	40	70 %	bis 3 Monate	unter 30 J.
BUSCHARD et al. (6)	1976	50 davon und 38	58 % 37 % 55 %	1 Woche 4 Wochen Ø 3,2 Jahre	

1. Fortsetzung von Tabelle 9

Autor (Ref.)	Jahr	Gesamt-zahl	davon ICA	Intervall zwischen Dm-Manifestation u. Blutabnahme	Patienten-alter
ILLENI et al. (12)	1976	82	2 (IgA)		
MORRIS et al. (29)	1976	?	59 %	unter 1 Jahr	
LENDRUM et al. (19)	1976	139 davon 27 13 11 19	33 (24 %) 16 (59 %) 7 (54 %) 2 (18 %) 4 (21 %)	 unter 1 Jahr " 2 " " 3 "	unter 30 J. " " " 31-70 Jahre
LENDRUM (16)	1976	560 davon	220 86 % 40 % 50 % unter 20 %	 1 Woche 7 Wochen 1 Jahr 3-20 Jahre	

2. Fortsetzung von Tabelle 9

Autor (Ref.)	Jahr	Gesamt-zahl	davon ICA	Intervall zwischen Dm-Manifestation u. Blutabnahme	Patienten-alter
LUDWIG et al. (22)	1977	67	11 (16,4 %)	0-32 J., Ø 13,8 J.	Manifestations-alter 2-39 J., Ø 23,2 J.
		194	64 %	bei Dm-Beginn	
			29 %	nach 3 J.	
			18 %	nach 5 J.	
			9 %	nach 10 J.	
			5 %	nach 20 J.	
CUDWORTH et. al. (7)	1977	110	58 %	0 - 18 Tage	unter 30 Jahren
DEL PRETE et al. (9)	1977	191 (22)	45,4 %	bis 6 Monate	unter 35 J.
		(24)	29,1 %	6-12 Monate	
		(52)	19,2 %	1-5 Jahre	
		(93)	20,4 %	über 5 Jahre	
		61	12 (19,6 %)	über 10 Jahre	
		200 (36)	19,4 %	unter 1 Jahr	über 35 J.
		(50)	20 %	1-5 Jahre	
		(114)	12,2 %	über 5 Jahre	

3. Fortsetzung von Tabelle 9

Autor (Ref.)	Jahr	Gesamt-zahl	davon ICA	Intervall zwischen Dm-Manifestation u. Blutabnahme	Patienten-alter
IRVINE et al. (15)	1977	648 davon 60 588	23 (38 %) Pat. mit Autoimmunerkr. 127 (22 %) Pat. ohne " " "		bis 80 Jahre meist 10-30 Jahre
			65 % 55 % 40 % 20 % 10 % 5 % 3 %	1 Monat 1-12 Monate 1-2 Jahre 2-5 Jahre 5-10 Jahre 10-20 Jahre über 20 Jahre	
PUJOL-BORRELL et al. (33)	1978	17 101	13 (76 %) 20 (20 %)	unter 8 Wochen, Ø 25 Tage Ø 7,8 Jahre	Ø 12,7 Jahre Ø 37,2 Jahre
THEOPHANIDES et al. (35)	1978	79 42	17 (14 %)	3-49 Jahre	bei Diagnose des Dm unter 20 J. über 40 J.

Tabelle 10

Typen des Insulin-abhängigen Diabetes mellitus
nach BOTTAZZO et al. (2, 3)

1. fragliche Virusätiologie
   Geschlechtsverteilung gleich
   Alter unter 30 Jahre
   keine assoziierten Autoimmunerkrankungen
   ICA-Prävalenz nach Beginn des Dm 85 % / 90 %
   nach einem Jahr 20 %
   Tendenz zum Verschwinden der Antikörper

2. in Verbindung mit organspezifischer Autoimmunität
   Frauen häufiger als Männer betroffen
   jedes Alter
   kombiniert mit Adrenalitis, Gastritis, Thyreoiditis
   Autoantikörper
   ICA-Prävalenz nach Beginn des Dm nicht bekannt
   nach einem Jahr 38 %
   Antikörper bleiben stabil für Jahre

Tabelle 11

ICA-Frequenz bei nicht-diabetischen Kontrollpersonen

Autor (Ref.)	Patienten-anzahl	davon ICA-Pos.	Bemerkungen
LENDRUM et al. (18)	177	3 (1,7 %)	
BOTTAZZO et al. (4)	102	3 (3 %)	Pat. mit Auto-immunerkrank.
MACCUISH et al. (23)	40	-	
LENDRUM et al. (20)	72	1	
IRVINE et al. (15)	522	29 (5,6 %)	Autoimmun-erkrankungen
	434	2 (0,5 %)	Kontrollen
DEL PRETE et al. (9)	1159	29 (1,7 %)	Autoimmun-erkrankungen
	200	-	Kontrollen
PUJOL-BORRELL et al. (33)	100	(1 %)	Ø Alter 33,7 J.
ILLENI et al. (12)	488	-	Blutspender
MANN (26)	257	(4 %)	Verwandte von Diabetikern
		0,5 %	Normalpersonen

Abbildung 1

Graphische Altersverteilung von Patientenkollektiv "1"

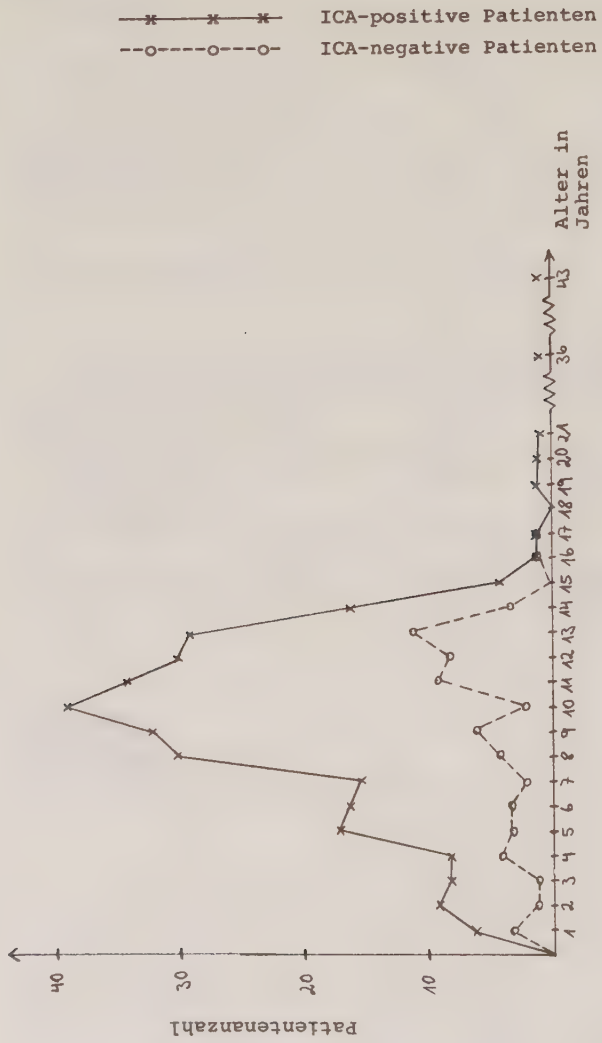
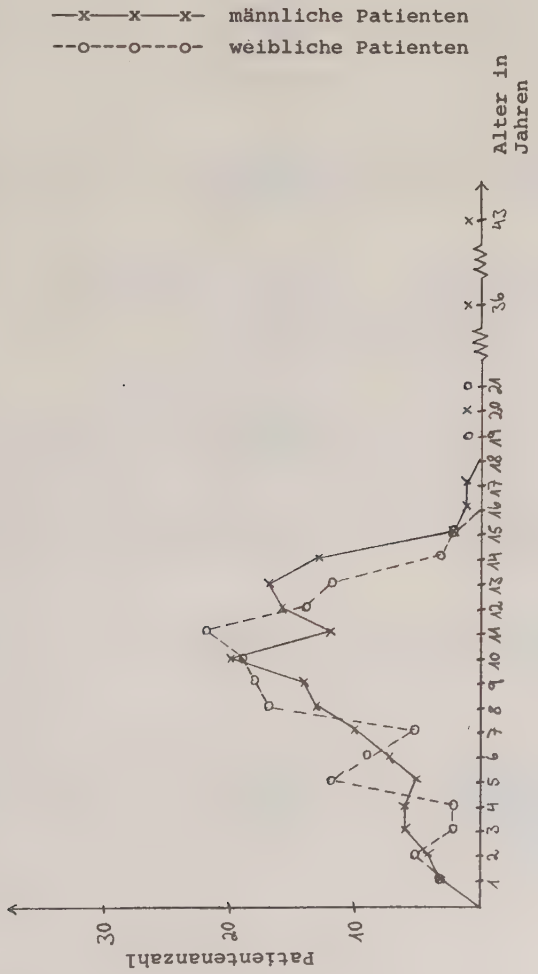


Abbildung 2

Graphische Alters- und Geschlechtsverteilung der ICA-positiven Patienten von Kollektiv "1"



L I T E R A T U R

1. BLOOM, A., HAYES, T.M., GAMBLE, D.R.: Register of newly diagnosed diabetic children. Br. Med. J. 3, (1975) 580-583

2. BOTTAZZO, G.F., DONIACH, D.: Pancreatic autoimmunity and HLA antigens. Lancet 2, (1976) 800

3. BOTTAZZO, G.F., DONIACH, D., POUPLARD, A.: Humoral autoimmunity in diabetes mellitus. Acta Endocrinol. Copenhagen 83, Suppl. 205, (1976) 55-61

4. BOTTAZZO, G.F., FLORIN-CHRISTENSEN,A., DONIACH, D.: Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. Lancet 2, (1974) 1279-1283

5. BOTTAZZO, G.F., LENDRUM, R.: Separate autoantibodies to human pancreatic glucagon and somatostatin cells. Lancet 2, (1976) 873-876

6. BUSCHARD, K., CHRISTAU, B., CHRISTY, M., NERUP, J., PLATZ, P., RYDER, L.P., SVEIGAARD, A., THOMSEN, M., BOTTAZZO, F.: HLA, autoimmunity and juvenile diabetes mellitus. Diabetologia 12, (1976) 382

7. CUDWORTH, A.G., GAMBLE, D.R., WHITE, G.B.B., LENDRUM, R., WOODROW, J.C., BLOOM, A.: Aetiology of juvenile-onset diabetes. A prospective study. Lancet 1, (1977) 385-388

8. DEL PRETE, G.F., BETTERLE, C., BERSANI, G., ROMANO, M., TIENGO, A.: Pancreatic islet-cell autoimmunity. Lancet 2, (1976) 1090

9. DEL PRETE, G.F., BETTERLE, C., PADOVAN, D., ERLE, G., TOFFOLO, A., BERSANI, G.: Incidence and significance of islet-cell autoantibodies in different types of diabetes mellitus. Diabetes 26, (1977) 909-915

10. DEL PRETE, G.F., TIENGO, A., NOSADINI, R., BOTTAZZO, G.F., BETTERLE, C., BERSANI, G.: Glucagon secretion in two patients with autoantibodies to glucagon-producing cells. Horm. Metab. Res. 10, (1978) 260-261

11. GEPTS, W.: Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. Diabetes 14, (1965) 619-633

12. ILLENI, M.T., PELLEGRIS, G., DEL GUERCIO, M.J., TARANTINO, A., BUSETTO, F., DI PIETRO, C., CLERICI, E., CHIUMELLO, G.: Autoimmunity and histocompatibility antigens in diabetes mellitus of childhood. Diabet. Metab. 2, (1976) 158

13. IRVINE, W.J., CLARKE, B.F., SCARTH, L., CULLEN, D.R., DUNCAN, L.J.P.: Thyroid and gastric autoimmunity in patients with diabetes mellitus. Lancet 2, (1970) 163-168

14. IRVINE, W.J., GRAY, R.S., MCCALLUM, C.J.: Pancreatic islet-cell antibody as a marker for asymptomatic and latent diabetes and prediabetes. Lancet 2, (1976) 1097-1102

15. IRVINE, W.J., MCCALLUM, C.J., GRAY, R.S., CAMPBELL, C.J., DUNCAN, L.J.P., FARQUHAR, J.W., VAUGHAN, H., MORRIS, P.J.: Pancreatic islet-cell antibodies in diabetes mellitus correlated with the duration and type of diabetes, coexistent autoimmune disease, and HLA type. Diabetes 26, (1977) 138-147

16. LENDRUM, R.: Discussion. Acta Endocrinol. Copenhagen 83, Suppl. 205, (1976) 62

17. LENDRUM, R., WALKER, G.: Serum antibodies in human pancreatic disease. Gut 16, (1975) 365-371

18. LENDRUM, R., WALKER, G., CUDWORTH, A.G., THEOPHANIDES, C., PYKE, D.A., BLOOM, A., GAMBLE, D.R.: Islet-cell antibodies in diabetes mellitus. Lancet 2, (1976) 1273-1276

19. LENDRUM, R., WALKER, G., CUDWORTH, A.G., WOODROW, J.C., GAMBLE, D.R.: HLA-linked genes and islet-cell antibodies in diabetes mellitus. Br. Med. J. 1, (1976) 1565-1567

20. LENDRUM, R., WALKER, G., GAMBLE, D.R.: Islet-cell antibodies in juvenile diabetes mellitus of recent onset. Lancet 1, (1975) 880-883

21. LERNMARK, A., FREEDMAN, Z.R., HOFMANN, C., RUBINSTEIN, A.H., STEINER, D.F., JACKSON, R.L., WINTER, R.J., TRAISMAN, H.S.: Islet-cell-surface antibodies in juvenile diabetes mellitus. N. Engl. J. Med. 299, (1978) 375-380

22. LUDWIG, H., SCHERNTHANER, G., MAYR, W.R.: Inselzellantikörper beim juvenilen Diabetes mellitus. Dtsch. Med. Wschr. 102, (1977) 1221-1224

23. MACCUISH, A.C., BARNES, E.W., IRVINE, W.J., DUNCAN, L.J.P.: Antibodies to pancreatic islet cells in insulin-dependent diabetics with coexistent autoimmune disease. Lancet 2, (1974) 1529-1531

24. MACLAREN, N.K., HUANG, S.W., FOGH, J.: Antibody to cultured human insulinoma cells in insulin-dependent diabetes. Lancet 1, (1975) 997-1000

25. MANCINI, A.M., ZAMPA, G.A., VECCHI, A., COSTANZI, G.: Histoimmunological techniques for detecting anti-insulin antibodies in human sera. Lancet 1, (1965) 1189-1191

26. MANN, - . : 13th Annual Meeting of the European Diabetes Epidemiology Study Group: Kuopio, 22/23rd May, 1978

27. VON MEYENBURG, H.: Ueber "Insulitis" bei Diabetes. Schweiz.Med. Wschr. 70, (1940) 554-557

28. MOORE, J.M., NEILSON, J.MCE.: Antibodies to gastric mucosa and thyroid in diabetes mellitus. Lancet 2, (1963) 645-647

29. MORRIS, P.J., VAUGHAN, H., MCCALLUM, C.J., GRAY, R.S., IRVINE, W.J., CAMPBELL, C.J., DUNCAN, L.J., FARQUHAR, J.W.: HLA and pancreatic islet cell antibodies in diabetes. Diabet. Metab. 2, (1976) 158

30. MÜNTEFERING, H., BIENER, J., HILLEBRAND, E.: Autoantibodies to islet cells in juvenile diabetics. Diabetologia 12, (1976) 411

31. NERUP, J., BINDER, C.: Thyroid, gastric and adrenal auto-immunity in diabetes mellitus. Acta Endocrinol., Copenhagen 72, (1973) 279-286

32. NERUP, J., PLATZ, P., RYDER, L.P., THOMSEN, M., SVEIGAARD, A.: HLA, islet cell antibodies, and types of diabetes mellitus. Diabetes 27, Suppl. 1, (1978) 247-250

33. PUJOL-BORRELL, R., RICHART, C., MARTIN, C., MARTINEZ-VAZQUEZ, J.M., BOTTAZZO, G.F.: Islet-cell antibodies in Spanish diabetics. Lancet 2, (1978) 268-269

34. SCHMIDT, M.B.: Ueber die Beziehung der Langerhans'schen Inseln des Pankreas zum Diabetes mellitus. Münch.Med.Wschr. 49, (1902) 51-54

35. THEOPHANIDES, C.G., PYKE, D.A., WATKINS, P.J.: Islet function in diabetics with persistent islet cell antibodies. Diabetes 27, Suppl. 1, (1978) 265-266

36. WHITTINGHAM, S., MATHEWS, J.D., MACKAY, I.R., STOCKS, A.E., UNGAR, B., MARTIN, F.I.R.: Diabetes mellitus, autoimmunity, and ageing. Lancet 1, (1971) 763-766

37. WICK, G., BAUDNER, S., HERZOG, F.: Immunfluoreszenz. Die Medizinische Verlagsgesell. Marburg/Lahn (1976)

Für die Themastellung dieser Dissertation und für seine ständige Unterstützungsbereitschaft möchte ich Herrn Prof. Dr. F.A. Gries herzlich danken.

Mein Dank gilt auch allen, die mir bei der Durchführung dieser Arbeit behilflich waren, namentlich Frau J. Biener, die mich in die Technik einführte, Herrn Prof. Dr. D. Grüneklee, Frau Dr. E. Junger, Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Kolb sowie Herrn Prof. Dr. H. Müntefering, der mir das Fluoreszenzmikroskop in seinem Laboratorium zur Verfügung stellte, und Herrn Prof. Dr. H.G. Goslar, der mir die Herstellung der Gefrierschnitte in seinem Institut ermöglichte.
Ebenso danke ich Frau Berthold und Frau Martin für ihre technische Assistenz.

L E B E N S L A U F

Am 29. Juni 1951 wurde ich in Stuttgart als erstes Kind des Prokuristen Günter Stroheker und seiner Ehefrau Tatjana geb. Schaupp geboren.
Kurz danach zogen meine Eltern nach Lahr/Schwarzwald. Von 1958 bis 1962 besuchte ich dort die Grundschule und wechselte anschließend in das humanistische Scheffel-Gymnasium über, wo ich im Juni 1970 das Abitur ablegte.

Nach einsemestriger Wartezeit nahm ich im Sommer-Semester 1971 in Freiburg/Breisgau das Studium der Zahnmedizin auf. Im Winter-Semester 1971/72 bestand ich das Vorphysikum und im Winter-Semester 1973/74 das Physikum. Zum Sommer-Semester 1974 wechselte ich an die Universität Mainz über, wo ich den klinischen Abschnitt des Studiums der Zahnmedizin begann, diesen jedoch im Sommer-Semester 1975 abbrach, da ich meine Neigung zur Human-Medizin entdeckte.

Zum Winter-Semester desselben Jahres bewarb ich mich erfolgreich um einen Studienplatz für Medizin an der Universität Düsseldorf. Hier habe ich im Sommer-Semester 1976 die Ärztliche Vorprüfung und im Sommer-Semester 1977 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestanden.

Im Sommer-Semester 1979 beabsichtige ich, den zweiten Abschnitt und nach dem Sommer-Semester 1980 den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung abzulegen. Mein derzeitiges Berufsziel ist Facharzt für Innere Medizin.